

## 小黄花茶内生真菌的多样性分析及抑菌活性初筛

易航, 何静, 杨希, 荣姝恬, 王丽\*

(四川大学生命科学学院, 成都 610065)

**摘要:** 为探究小黄花茶内生真菌种类和种群分布规律以及对植物病原真菌的抑制作用, 该研究采用组织分离法对小黄花茶内生真菌进行分离纯化, 基于形态学和分子生物学进行鉴定, 结合统计学分析评价其多样性, 再通过平板对峙法筛选出具有抑菌活性的菌株。结果表明:

(1) 从小黄花茶 324 份组织块中分离得到内生真菌 261 株, 隶属于 1 门 5 纲 9 目 22 属, 其中优势属包括炭疽菌属 (*Colletotrichum*)、间座壳属 (*Diaporthe*)、拟盘多毛孢属 (*Pestalotiopsis*), 分离频率分别为 21.84%、16.86%、10.34%。(2) 研究发现小黄花茶内生真菌在不同季节分布不同, 冬季分离出的菌株数量最多, 为 72 株, 占 27.59%, 分属于 16 个属; 春季 62 株, 分属于 13 个属; 夏季 59 株, 分属于 15 个属; 秋季 68 株, 分属于 13 个属; 冬季的香农-维纳指数 ( $H'$ )、辛普森指数 ( $D$ )、均匀度指数 ( $E$ ) 和丰富度指数 ( $M$ ) 最高, 春季与冬季内生真菌种类相似性较高, 夏季与秋季内生真菌种类相似性较高。(3) 小黄花茶内生真菌不同部位分布不同, 茎中内生真菌的分布最多, 有 102 株, 占 39.08%, 分属于 15 个属; 根 61 株, 分属于 10 个属; 叶 98 株, 分属于 15 个属; 茎的香农-维纳指数、辛普森指数、均匀度指数、丰富度指数最高, 叶部与茎部内生真菌种类最为相似。(4) 平板对峙结果显示, 在 35 株供试内生真菌中, 有 26 株内生真菌至少对 1 种植物病原真菌有抑制作用, 占 74.29%, 其中 CJ-II-2、XY-V-3、QY-II-4、QJ-III-2、DJ-I-2 对 8 种植物病原真菌均有不同程度的抑制作用, XY-V-3 对 8 种植物病原真菌的抑制效果最佳, 抑菌率均高于 50%, XY-V-3 和 QJ-III-2 对 2 株小黄花茶病原真菌的抑菌率高于 50%, 具备防治小黄花茶自身病害的潜力。小黄花茶内生真菌多样性丰富, 部分菌株表现出较好地抑制植物病原真菌的作用, 为生物防治产品的研发和小黄花茶病害的防治奠定了基础。

**关键词:** 小黄花茶, 内生真菌, 分离鉴定, 多样性, 抑菌活性

中图分类号: Q945.8

文献标识码: A

## Diversity analysis of endophytic fungi and preliminary screening of antibacterial activity in *Camellia luteoflora*

YI Hang, HE Jing, YANG Xi, RONG Sutian, WANG Li\*

(College of life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

**Abstract:** In order to explore the species and population distribution of endophytic fungi in *Camellia luteoflora*, as well as their inhibitory effects on plant pathogenic fungi, this study used tissue separation method to isolate and purify endophytic fungi in *C. luteoflora*. These fungi were identified based on morphology and molecular biology, and their diversity was evaluated through statistical analysis. The strains with antibacterial activity were screened out by the plate confrontation method. The results were as follows: (1) A total of 261 strains of endophytic fungi were isolated from 324 *C. luteoflora* tissue samples, belonging to 1 phylum, 5 classes, 9 orders,

**基金项目:** 四川省科技计划项目 (川林规函[2021]959 号-002) [Supported by Science and Technology Planning Project of Sichuan Province (Sichuan Forest Regulation Letter [2021] No. 959-002)]

**第一作者:** 易航 (1998-), 硕士研究生, 主要从事野生动植物资源的保护、开发和利用, (E-mail) 302925146@qq.com。

**\*通信作者:** 王丽, 教授, 主要从事植物的起源和进化、细胞遗传、引种驯化等方面的科研工作, (E-mail) yzxj@vip.163.com。

and 22 genera. The dominant genera were *Colletotrichum*, *Diaporthe* and *Pestalotiopsis* with isolation frequencies of 21.84%, 16.86% and 10.34%, respectively. (2) The distribution of endophytic fungi in *Camellia luteoflora* varied in different seasons. The highest number of strains was isolated in winter (72 strains, accounting for 27.59%), which belonged to 16 genera; 62 strains were isolated in spring, belonging to 13 genera; 59 strains were isolated in summer, belonging to 15 genera; and 68 strains were isolated in autumn, belonging to 13 genera. The Shannon-Wiener index ( $H'$ ), Simpson index ( $D$ ), evenness index ( $E$ ), and richness index ( $M$ ) were highest in winter. The similarity of endophytic fungal species between spring and winter was higher, and the similarity between summer and autumn was higher. (3) The distribution of endophytic fungi also varied in different parts of *C. luteoflora*. The stem had the most abundant endophytic fungi, with 102 strains (accounting for 39.08%) belonging to 15 genera; 61 strains were isolated from the roots, belonging to 10 genera; and 98 strains were isolated from the leaves, belonging to 15 genera. The Shannon-Wiener index, Simpson index, evenness index, and richness index were highest in the stems, and the endophytic fungal species in the leaves were most similar to those in the stems. (4) The plate confrontation results showed that among the 35 tested endophytic fungi, 26 endophytic fungi had inhibitory effects on at least one plant pathogen fungus, accounting for 74.29%, among which CJ-II-2, XY-V-3, QY-II-4, QJ-III-2 and DJ-I-2 had inhibitory effects on 8 plant pathogen fungi to varying degrees. XY-V-3 had the best inhibitory effect on 8 plant pathogenic fungi, and the inhibitory rate was higher than 50%. XY-V-3 and QJ-II-2 have higher inhibitory rate than 50% on 2 strains of pathogenic fungi in *C. luteoflora*, which had the potential to control disease of *C. luteoflora*. The diversity of endophytic fungi in *C. luteoflora* is rich, and Some of the strains have higher effect of inhibiting plant pathogenic fungi, which lay a foundation for the research and development of biological control products and the control of the disease of *C. luteoflora*.

**Keywords:** *Camellia luteoflora*, endophytic fungi, separation and identification, diversity, antibacterial activity

植物内生真菌是指生活史中的某一阶段或整个阶段，寄生在健康植物组织内部，但不会使宿主植物出现明显病害症状的微生物（Zhao et al., 2011）。内生真菌与宿主植物形成互惠共生体，植物为内生真菌提供营养物质和栖息场所，内生真菌能够产生抑菌活性物质和促生性物质，保护宿主植物抵御病虫害，促进宿主植物的生长，两者协同进化，相互作用（Martina et al., 2014）。研究发现，植物内生真菌种类繁多，分布广泛，其多样性体现在，同一地区内同种植物在不同年龄段、不同部位以及所处的季节不同，分离得到的内生真菌种类和数量都不同。王京等（2017）发现，不同年龄段的侧柏（*Platycladus orientalis*），其鳞叶内生真菌的多样性和相似性存在一定的差异。李梦歌等（2018）发现陕西宜君核桃（*Juglans regia*）不同季节和不同组织部位其内生真菌多样性和相似性均不同。除此之外，不同地区的同种植物分离得到的内生真菌种类和数量也不相同。周炯等（2023）统计分析了红河谷和蒿坪两地野生桃儿七（*Sinopodophyllum hexandrum*）内生真菌的多样性，发现蒿坪野生桃儿七内生真菌多样性要高于红河谷。因此，根据当地植物生长特点分析其内生真菌的多样性，筛选出优势菌株和特有菌株，是挖掘具有生防作用和其他功能性作用菌株的基础。内生真菌可以产生抗病原真菌的次生代谢产物，例如萜类、生物碱、黄酮等（Aly et al., 2010），也能通过抢占生态位点和营养物质等竞争方式，抑制病原真菌的生长（宋金秋和田璨熙，2020）。同时，利用植物内生菌进行生物防治，具有无污染，无耐药性，安全可持续的优点。

小黄花茶（*Camellia luteoflora*），我国特有珍稀植物，隶属山茶科（Theaceae）山茶属

(*Camellia*)，目前分布在贵州赤水市、四川古蔺县、长宁县等地区(杨雪, 2014; 陈锋和王馨, 2016)。小黄花茶花色金黄, 叶片宽厚, 因其性状独特, 具有较高的观赏价值, 在园林绿化、盆栽、鲜切花领域都有不错的发展前景(邹天才, 2000)。然而, 小黄花茶病害严重, 油茶饼病和鬼帚病是危害其植株健康的主要病害, 对其经济和观赏价值造成了严重影响(刘清炳等, 2005)。针对小黄花茶病害的防治并没有得到深入的研究, 如何安全有效地防治小黄花茶的病害, 同时对其生境不造成破坏, 是目前亟需解决的问题。小黄花茶作为濒危植物, 对其内生真菌的多样性和抑菌活性进行研究, 一方面能够回答其内生真菌由哪些种类组成? 不同组织部位和不同季节的内生真菌的分布及多样性如何? 哪些内生真菌属于优势菌株? 加强对小黄花茶内生真菌资源的了解, 为其内生真菌资源的开发做铺垫。另一方面, 由于小黄花茶数量稀少, 其病害的防治显得尤为重要, 通过抑菌试验筛选出具有生防潜力的菌株, 不仅能够小黄花茶的病害防治开辟一条新的路径, 同时还能缓解因化学防治对小黄花茶生境造成的影响。

因此, 本研究以小黄花茶为对象, 采用组织分离法和分子生物学等方法, 对小黄花茶内生真菌进行分离鉴定, 分析其内生真菌的多样性, 筛选出优势菌株和特有菌株, 并通过小黄花茶内生真菌对植物病原真菌抑制作用的探究, 筛选出具有广谱抑菌活性的菌株, 为小黄花茶病害的防治以及小黄花茶内生真菌资源的进一步利用提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 供试植物

小黄花茶(*Camellia luteoflora*)样品于春(2021年4月)、夏(2021年7月)、秋(2021年10月)、冬(2022年1月)四个季节采自四川省古蔺县桂花乡汉溪村(海拔901 m, 105°41'17" E、28°10'52" N), 随机选择5株健康的小黄花茶, 每株采集其根、枝条、叶片各3份, 装入无菌样品袋放入冰盒, 带回实验室后于4℃环境保存。

#### 1.1.2 供试病原菌

8种供试植物病原真菌分别为茶叶轮斑菌(*Pestalotiopsis theae*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、串珠镰刀菌(*F. moniliforme*)、草莓炭疽菌(*Colletotrichum fragariae*)、油菜菌核菌(*Sclerotium sclerotiorum*)、西瓜枯萎菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)、小黄花茶致病菌(*Colletotrichum cliviicola*、*Alternaria alternata*)，由四川大学生命科学学院微生物实验室提供。

#### 1.1.3 主要仪器

立式压力蒸汽灭菌器(LDZX-50KBS, 上海)、全温振荡器(HZQ-QX, 哈尔滨)、智能生化培养箱(SPX, 宁波)、电热恒温水浴锅(HSG-IC-2, 浙江)、台式高速离心机(H1650-W, 湖南)、旋转蒸发器(RE-5522, 上海)。

#### 1.1.4 主要试剂

无水乙醇、次氯酸钠溶液、乳酸酚棉蓝染色剂、马铃薯葡萄糖水(PDW)、真菌基因组DNA快速抽提试剂盒(生工生物, 上海)、Taq PCR Mix 预混液(2X含蓝染料)、通用引物ITS1、ITS4(生工生物, 上海)、马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基(solarbio, 美国)。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 小黄花茶内生真菌的分离与纯化

小黄花茶根、茎、叶洗净后, 进行表面消毒, 将消毒后的组织切段, 斜插入PDA培养基中, 28℃恒温暗培养。待菌落长出后, 挑取菌落边缘形态质地不同的菌丝于新的PDA培养基单独培养, 反复操作2~3次, 直至得到单一菌落, 编号后拍照记录菌落特征。最后将菌丝接入PDA斜面, 28℃培养一段时间后置于4℃保存。

表面消毒效果的检测：把最后一遍清洗液涂布在 PDA 培养基上，28 ℃ 培养 7 d 后未发现有菌落长出，说明表明消毒彻底，分离得到的菌株全部来自于植株内部，属内生真菌。

### 1.2.2 小黄花茶内生真菌的鉴定

#### 1.2.2.1 形态学鉴定

定期观察 PDA 培养基上的菌落生长状况和形态特征，包括形状、质地、颜色、生长速度等。菌落生长初期，挑取菌落边缘的菌丝孢子于载玻片上，用乳酸酚棉蓝染色剂进行染色，制成玻片后于光学显微镜下观察菌丝形态特征、是否产孢、产孢结构的形态特征、产孢方式及孢子形态、大小、颜色等。根据观察结果，参照《真菌鉴定手册》(魏景超, 1979)和《Illustrated genera of imperfect fungi》(Barnett & Hunter, 1998)，结合张永杰等 (2010) 的方法进行鉴定。将鉴定后的内生真菌进行编号，前两位表示季节和部位的首字母缩写，中间的罗马数字表示所采植物的编号，最后一位数字表示所属组织块的编号。

#### 1.2.2.2 分子生物学鉴定

内生真菌 DNA 用真菌基因组 DNA 快速抽提试剂盒进行提取，于 -20℃ 保存。采用通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGC-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 对提取的 DNA 进行 PCR 扩增，将扩增后的 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳，条带明亮清晰的产物送至生物生物工程 (上海) 有限股份公司进行测序。

### 1.2.3 小黄花茶内生真菌的系统进化分析

测序后的内生真菌 ITS 序列在 NCBI 数据库中进行 BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 比对分析，在 MEGA 11 软件中使用邻接法 (NJ) 构建系统发育树，重复计算 1 000 次，确定真菌的分类地位 (Kumar et al., 2016)。

### 1.2.4 小黄花茶内生真菌的多样性分析

分别统计小黄花茶内生真菌的定殖率 (colonization rate, CR)、分离率 (isolation rate, IR)、分离频率 (isolation frequency, IF)、辛普森指数 (Simpson's diversity,  $D$ )、香农-维纳指数 (Shannon-Weiner diversity index,  $H'$ )、均匀度指数 (Pielou's evenness index,  $E$ )、丰富度指数 (Margalef's index,  $M$ )，并基于小黄花茶内生真菌的种类组成，使用 SPSS 24.0 软件对不同季节和部位的内生真菌进行聚类分析。通过以上数据分析小黄花茶内生真菌的多样性、优势种群、分布的均匀程度、丰富度，以及不同季节和部位间的相似水平。

定殖率 (CR)：长真菌的组织块数量与分离的组织块总数的比值，反映植物受真菌感染的程度。

分离率 (IR)：某一类菌株的数量与分离的组织块总数的比值，用于度量组织中真菌的丰度以及组织块受感染的频率。

分离频率 (IF)：某一类菌株的数量与分离得到的菌株总数的比值，反映不同种类内生真菌的优势程度。

辛普森指数 ( $D$ )：反映群落中物种的优势度或多样性

$$D = 1 - \sum_{i=1}^S P_i^2, P_i = \frac{N_i}{N}。$$

香农-维纳指数 ( $H'$ )：反映群落种类的多样性。

$$H' = - \sum_{i=1}^S P_i \times \ln P_i, P_i = \frac{N_i}{N}。$$

丰富度指数 ( $M$ )：反映群落中物种的丰富度。

$$M = S - \frac{1}{\log_2 N}。$$

均匀度指数 ( $E$ )：反映物种在群落中分布的均匀程度。

$$E = \frac{H'}{\ln S}$$



式中： $N_i$ 表示不同季节或部位内生真菌*i*的数量； $N$ 为菌株总数； $S$ 为物种数。

1.2.5 小黄花茶内生真菌抑菌作用

采用平板对峙培养法测定小黄花茶内生真菌的抑菌活性，用直径为 6 mm 的打孔器将 35 株供试内生真菌和 8 株病原菌菌株打菌饼，再将 8 株病原菌菌饼与 35 株内生真菌菌饼一一对应，接种至同一 PDA 培养基的对称位置，每个处理重复 3 次，以单独接种病原菌的 PDA 培养基作为对照，28 ℃暗培养 7 d。之后用十字交叉法测量病原菌对峙培养的趋向半径（ $r$ ）和单独培养的半径（ $R$ ），计算抑菌率并筛选出具有抑菌性的内生真菌。

抑菌率=  $\frac{R-r}{R} \times 100\%$ 。

分级标准：抑菌率>75%为强，50%~75%为中，10%~50%为低，<10%为无。

2 结果与分析

2.1 小黄花茶内生真菌的分离

从小黄花茶 324 份组织块中分离得到内生真菌 261 株，由表 1 可知，小黄花茶内生真菌的总定殖率和总分离率分别为 71.30%和 80.55%，从定殖率来看，不同部位内生真菌定殖率不同，最高的部位为茎（88.89%），其次为叶（81.48%），根最低（43.52%）；不同季节定殖率也不同，冬季最高（75.31%），秋季第二（72.84%），其次为春季（69.14%），夏季最低（67.90%）。分离率从高到低依次为茎（94.44%）>叶（90.74%）>根（56.48%），冬（88.89%）>秋（83.95%）>春（76.54%）>夏（72.83%）；分离频率茎最高占 39.08%，叶其次占 37.55%，根最低占 23.37%，按季节从高到低依次为冬（27.59%）>秋（26.05%）>春（23.75%）>夏（22.61%）。

表 1 小黄花茶不同季节和部位内生真菌统计结果

Table 1 Statistical results of endophytic fungi in different season sand parts of *Camellia luteoflora*

部位/季节 Parts/ Seasons	组织块数 Number of tissue segments	长菌组织块数 Number of tissue segments with fungi	内生真菌数 Number of endophytic fungi	定殖率 Colonization rate (%)	分离率 Isolation rate (%)	分离频率 Isolation frequency(%)
根 Root	108	47	61	43.52	56.48	23.37
茎 Stem	108	96	102	88.89	94.44	39.08
叶 Leaf	108	88	98	81.48	90.74	37.55
春 Spring	81	56	62	69.14	76.54	23.75
夏 Summer	81	55	59	67.90	72.83	22.61
秋 Autumn	81	59	68	72.84	83.95	26.05
冬 Winter	81	61	72	75.31	88.89	27.59

2.2 小黄花茶内生真菌的种群组成

将提取出的真菌基因组 DNA，以 ITS1 和 ITS4 为引物进行扩增，得到长度约为 500~750

bp 的扩增片段，经测序后，将测序结果在 GenBank 数据库进行 BLAST 比对，根据比对结果利用 MEGA11 软件，取相似性大于 99%的序列构建系统进化树（图 1），最后结合纯化后菌落的颜色、形态、质地，以及显微镜下孢子和菌丝的形态，鉴定为 35 个种，归属于 1 门 5 纲 9 目 22 属（显微形态图和菌落图如图 2 和图 3 所示）。

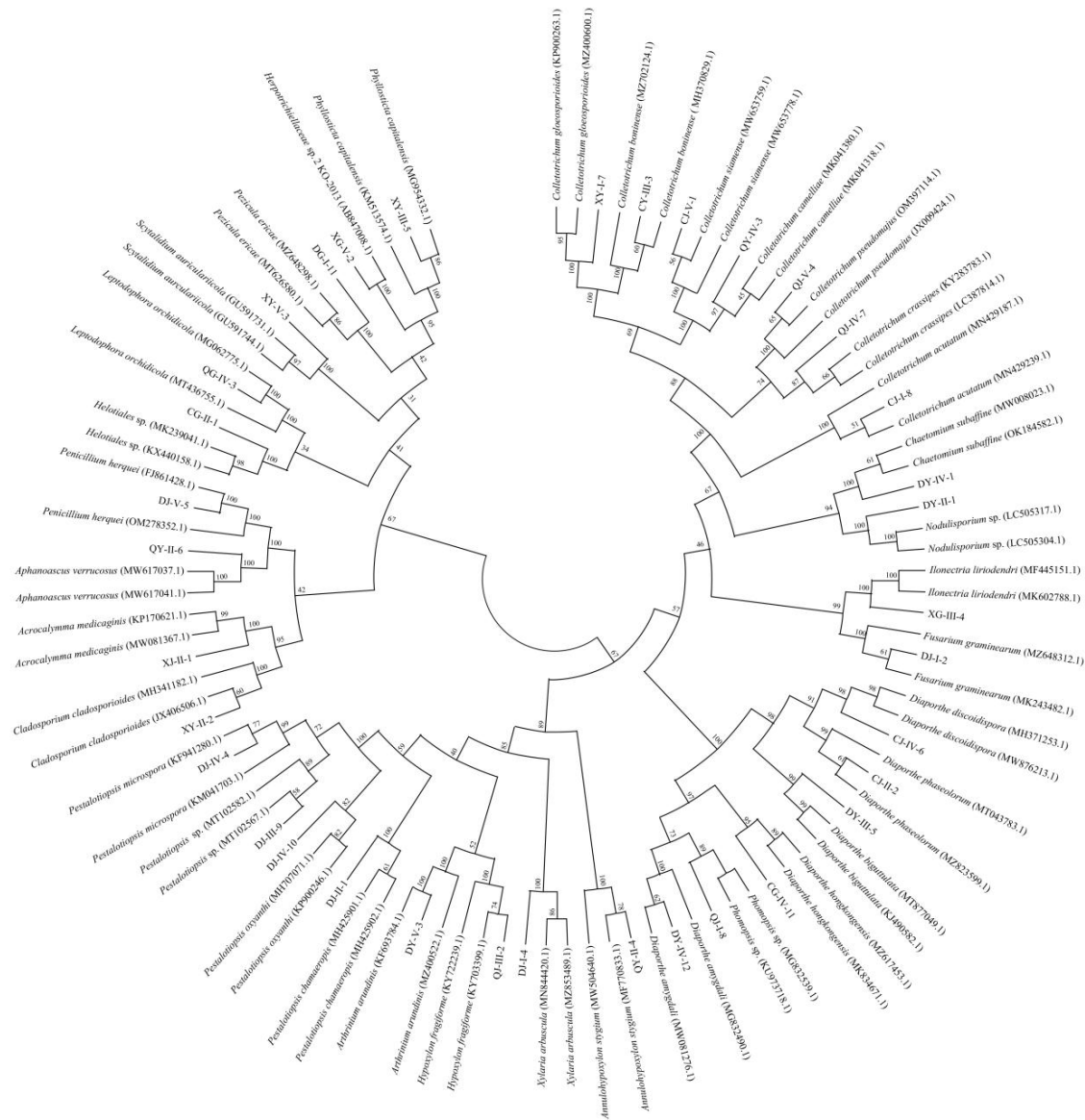
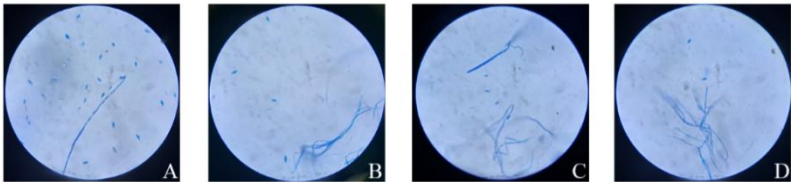


图 1 基于小黄花茶内生真菌 rDNA-ITS 序列构建的 NJ 系统发育树

Fig.1 NJ phylogenetic tree constructed based on rDNA-ITS sequence of endophytic fungi of *Camellia luteoflora*



A. CJ-II-2 孢子和菌丝； B. QY-IV-3 孢子和菌丝； C. DJ-III-9 孢子和菌丝； D. XJ-II-1 孢子和菌丝  
A. Spores and mycelia of CJ-II-2; B. Spores and mycelia of QY-IV-3; C. Spores and mycelia of DJ-III-9; D. Spores and mycelia of XJ-II-1.

图 2 小黄花茶部分内生真菌孢子和菌丝显微形态图

Fig.2 Microscopic morphology of spores and mycelia of endophytic fungi in *Camellia luteoflora*



图 3 小黄花茶内生真菌菌落图

Fig.3 Endophytic fungi colony diagram of *Camellia luteoflora*

由表 2 可知，小黄花茶内生真菌全部来自子囊菌门（Ascomycota）。以纲为单位划分，其中粪壳菌纲（Sordariomycetes）为优势纲，共有内生真菌 197 株，占总菌株数的 75.48%；散囊菌纲（Eurotiomycetes）共有内生真菌 20 株，占总菌株数的 7.66%；座囊菌纲（Dothideomycetes）共有内生真菌 21 株，占总菌株数的 8.05%；锤舌菌纲（Leotiomycetes）共有内生真菌 20 株，占总菌株数的 7.66%；刺盾炱纲（Chaetothyriomycetes）共有内生真菌 3 株，占总菌株数的 1.15%。小黄花茶内生真菌在目水平上的组成包括 9 个目，分别为炭角菌目（Xylariales）、肉座菌目（Hypocreales）、间座壳菌目（Diaporthales）、刺盘孢目（Glomerellales）、散囊菌目（Eurotiales）、煤炱目（Capnodiales）、格孢腔目（Pleosporales）、柔膜菌目（Helotiales）、刺盾炱目（Chaetothyriales）。其中优势目包括炭角菌目、刺盘孢目、间座壳菌目，分别占总菌株数的 26.47%、21.84%、18.77%。小黄花茶内生真菌在属水平上的组成包括拟盘多毛孢属（*Pestalotiopsis*）、炭团菌属（*Hypoxyylon*）、*Annulohypoxyylon*、炭角菌属（*Xylaria*）、毛壳菌属（*Chaetomium*）、多节孢属（*Nodulisporium*）、色孢子节菱孢菌属（*Arthrinium*）、镰刀菌属、土赤壳属（*Ilyonectria*）、间座壳属（*Diaporthe*）、拟茎点霉属（*Phomopsis*）、炭疽菌属、青霉属（*Penicillium*）、隐囊菌属（*Aphanoascus*）、背芽突霉属（*Cadophora*）、叶点霉属（*Phyllosticta*）、枝孢菌属（*Cladosporium*）、*Acrocalymma*、柔盘菌属（*Hymenoscyphus*）、柱霉属（*Scytalidium*）、无柄盘菌属（*Pezicula*）、*Herpotrichiellaceae* 共 22 个属。其中优势属包括炭疽菌属，占菌株总数的 21.84%；间座壳属，占菌株总数的 16.86%；拟盘多毛孢属，占菌株总数的 10.34%。

表 2 小黄花茶内生真菌的种类组成

Table 2 Classification status of endophytic fungi strains of *Camellia luteoflora*

分类名称	代表菌株	相似性最高菌株	登录号	同源性	IF	IR
Category name	On behalf of the strains	Top BALST search results	NO. acc.	Homology (%)	(%)	(%)
子囊菌门 <b>ASCOMYCOTA</b>						
刺盾炱纲						
<b>CHAETOTHYRIOMYCETES</b>						
刺盾炱目 <b>Chaetothyriales</b>						
<i>Herpotrichiellaceae</i>	XG-V-2	<i>Herpotrichiellaceae</i> sp. 2 KO-2013	AB847008.1	99	0.38	0.31
背芽突霉属 <i>Cadophora</i>	QG-IV-3	<i>Cadophora orchidicola</i>	MG062775.1	100	0.77	0.62
锤舌菌纲 <b>Leotiomycetes</b>						
柔膜菌目 <b>Helotiales</b>						
柔盘菌属 <i>Hymenoscyphus</i>	CG-II-1	<i>Helotiales</i> sp.	KX440158.1	99	0.38	0.31
无柄盘菌属 <i>Pezicula</i>	DG-I-11	<i>Pezicula ericae</i>	MT626580.1	100	6.70	5.56
柱霉属 <i>Scytalidium</i>	XY-V-3	<i>Scytalidium auriculariicola</i>	GU591744.1	99	0.38	0.31
粪壳菌纲						
<b>SORDARIOMYCETES</b>						
炭角菌目 <b>Xylariales</b>						
拟盘多毛孢属 <i>Pestalotiopsis</i>	DJ-III-9	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	MT102582.1	99	4.98	4.01
	DJ-II-1	<i>Pestalotiopsis chamaeropsis</i>	MH425902.1	99	1.15	0.93
	DJ-IV-4	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	KM041703.1	99	0.77	0.62
	DJ-IV-10	<i>Pestalotiopsis oxyanthi</i>	KP900246.1	99	3.45	2.78
炭团菌属 <i>Hypoxylon</i>	QJ-III-2	<i>Hypoxylon fragiforme</i>	KY703399.1	100	8.05	6.48
<i>Annulohypoxylon</i>	QY-II-4	<i>Annulohypoxylon stygium</i>	MW504640.1	99	0.77	0.62
炭角菌属 <i>Xylaria</i>	DJ-I-4	<i>Xylaria arbuscula</i>	MZ853489.1	99	4.60	3.70
毛壳菌属 <i>Chaetomium</i>	DY-IV-1	<i>Chaetomium subaffine</i>	MW008023.1	99	0.77	0.62
多节孢属 <i>Nodulisporium</i>	DY-II-1	<i>Nodulisporium</i> sp.	LC505317.1	99	1.53	1.23
色孢子节菱孢菌属 <i>Arthrinium</i>	DY-V-3	<i>Arthrinium arundinis</i>	MZ400522.1	99	0.38	0.31
肉座菌目 <b>Hypocreales</b>						
镰刀菌属 <i>Fusarium</i>	DJ-I-2	<i>Fusarium graminearum</i>	MZ648312.1	100	4.98	4.01
土赤壳属 <i>Ilyonectria</i>	XG-III-4	<i>Ilyonectria liriodendri</i>	MF445151.1	99	3.45	2.78
间座壳菌目 <b>Diaporthales</b>						
间座壳属 <i>Diaporthe</i>	CG-IV-11	<i>Diaporthe hongkongensis</i>	MZ617453.1	99	9.58	7.72
	CJ-II-2	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	MT043783.1	99	3.45	2.78
	DY-IV-12	<i>Diaporthe amygdali</i>	MK511798.1	99	1.92	1.54
	DY-III-5	<i>Diaporthe biguttulata</i>	MT877049.1	99	1.15	0.93
	CJ-IV-6	<i>Diaporthe discoidispora</i>	MH371253.1	99	0.77	0.62
拟茎点霉属 <i>Phomopsis</i>	QJ-I-8	<i>Phomopsis</i> sp.	MG832539.1	99	1.92	1.54
刺盘孢目 <b>Glomerellales</b>						
炭疽菌属 <i>Colletotrichum</i>	QJ-V-4	<i>Colletotrichum pseudomajus</i>	JX009424.1	99	1.15	0.93
	QJ-IV-7	<i>Colletotrichum crassipes</i>	KY283783.1	99	1.53	1.23
	CY-III-3	<i>Colletotrichum boninense</i>	MZ702124.1	100	6.13	4.94
	CJ-I-8	<i>Colletotrichum acutatum</i>	MN429239.1	100	2.68	2.16
	QY-IV-3	<i>Colletotrichum camelliae</i>	MK041380.1	100	0.77	0.62



	CJ-V-1	<i>Colletotrichum siamense</i>	MW647834.1	99	1.92	1.54
	XY-I-7	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KP900263.1	100	7.66	6.17
散囊菌纲 <b>EUROTIOMYCETES</b>						
散囊菌目 <b>Eurotiales</b>						
青霉属 <i>Penicillium</i>	DJ-V-5	<i>Penicillium herquei</i>	OM278352.1	99	1.92	1.54
隐囊菌属 <i>Aphanoascus</i>	QY-II-6	<i>Aphanoascus verrucosus</i>	MW617041.1	99	5.75	4.63
座囊菌纲						
<b>DOTHIDEOMYCETES</b>						
煤炱目 <b>Capnodiales</b>						
叶点霉属 <i>Phyllosticta</i>	XY-III-5	<i>Phyllosticta capitalensis</i>	MG954332.1	100	6.13	4.94
枝孢菌属 <i>Cladosporium</i>	XY-II-2	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	JX406506.1	100	1.15	0.93
格孢腔目 <b>Pleosporales</b>						
<i>Acrocalymma</i>	XJ-II-1	<i>Acrocalymma medicaginis</i>	MW081367.1	100	0.77	0.62

2.3 小黄花茶内生真菌生态分布

2.3.1 不同季节内生真菌分布

如图 4 所示，春季分离出的内生真菌包含 13 个属；夏季包含 15 个属；秋季包含 13 个属；冬季包含 16 个属。4 个季节共有属分别是隐囊菌属、炭疽菌属、间座壳属、镰刀菌属、炭团菌属、炭角菌属、拟盘多毛孢属、无柄盘菌属、叶点霉属，仅于春季组织中分离得到的属有 1 个，为柔盘菌属；仅于夏季组织中分离得到的属有 3 个，分别为柱霉属、*Acrocalymma*、*Herpotrichiellaceae*；仅于秋季组织中分离得到的属有 *Annulohypoxylon*；冬季组织中分离到的特有属有 2 个属，分别为毛壳菌属、色孢子节菱孢菌属。春季分离出的特有菌株为 *Helotiales* sp.、*Diaporthe discoidispora*；夏季分离出的特有菌株为 *Herpotrichiellaceae* sp. 2 KO-2013、*Scytalidium auriculariicola*、*Acrocalymma medicaginis*；秋季分离出的特有菌株为 *Annulohypoxylon stygium*、*Colletotrichum camelliae*；冬季分离出的特有菌株为 *Chaetomium subaffine*、*Arthrinium arundinis*、*Pestalotiopsis chamaeropsis*、*P. microspora*。春季和夏季的共有菌株有 12 种，春季和秋季的共有菌株有 16 种，春季和冬季的共有菌株有 15 种，夏季和秋季的共有菌株有 11 种，夏季和冬季的共有菌株有 14 种，秋季和冬季的共有菌株有 14 种。

2.3.2 不同部位内生真菌分布

如图 4 所示，茎部分离出的内生真菌包含 15 个属；叶部包含 18 个属；根部包含 10 个属。三个部位共有的属分别是隐囊菌属、炭疽菌属、间座壳属、炭团菌属、土赤壳属、无柄盘菌属、炭角菌属。从根分离到的特有属为柔盘菌属、*Herpotrichiellaceae*；茎分离到的特有属为 *Acrocalymma*；叶分离到的特有属为柱霉属、*Annulohypoxylon*、毛壳菌属、色孢子节菱孢菌属。根分离出的特有菌株为 *Helotiales* sp.、*Herpotrichiellaceae* sp. 2 KO-2013；茎分离出的特有菌株为 *Diaporthe discoidispora*、*Acrocalymma medicaginis*、*Colletotrichum pseudomajus*；叶分离出的特有菌株为 *Scytalidium auriculariicola*、*Annulohypoxylon stygium*、*Chaetomium subaffine*、*Arthrinium arundinis*。根和茎的共有菌株有 10 种，根和叶的共有菌株有 8 种，茎和叶的共有菌株有 20 种。

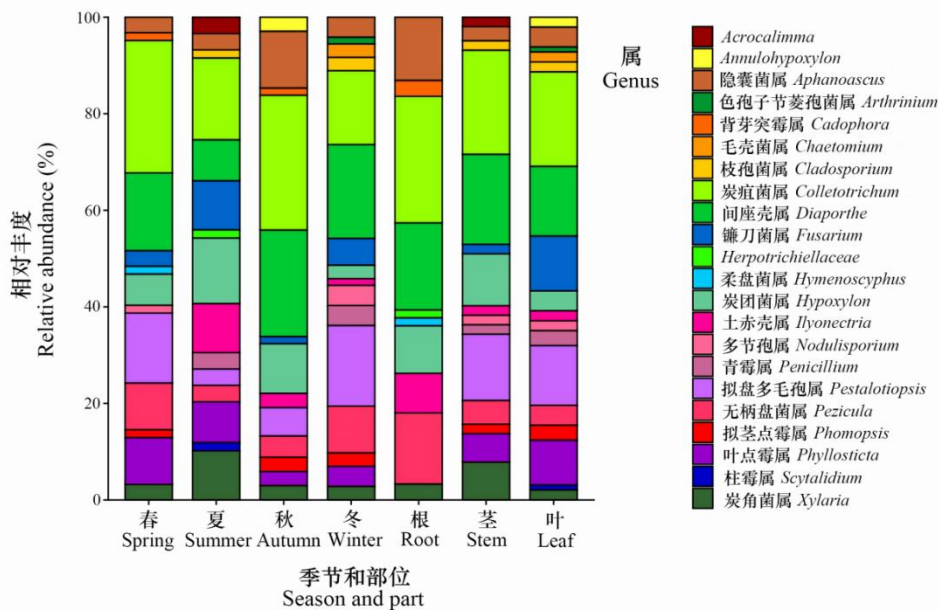


图 4 小黄花茶内生真菌不同季节和部位属的相对丰度

Fig.4 Relative abundances of endophytic fungi in different seasons and parts of *Camellia luteoflora*

2.3.3 小黄花茶内生真菌的多样性分析

根据小黄花茶不同季节内生真菌的多样性指数结果（图 5），辛普森指数从高到低的顺序为冬（0.944）>春（0.929）>秋（0.926）>夏（0.919）；香农-维纳指数为冬（3.027）>春（2.820）>秋（2.813）>夏（2.670）；丰富度指数为冬（3.728）>春（3.359）>秋（3.285）>夏（2.890）；均匀度指数为冬（0.952）>春（0.926）>夏（0.923）>秋（0.906）。根据小黄花茶不同部位内生真菌的多样性指数结果（图 5），辛普森指数从高到低的顺序为茎（0.947）>叶（0.936）>根（0.887）；香农-维纳指数为茎（3.116）>叶（2.958）>根（2.337）；丰富度指数为茎（3.897）>叶（3.628）>根（2.023）；均匀度指数为茎（0.945）>叶（0.919）>根（0.911）。小黄花茶内生真菌不同季节间，冬季种群数量最丰富且均匀程度高；不同部位间茎部种群数量最丰富且均匀程度高，根部内生真菌菌群单一且稳定性弱。

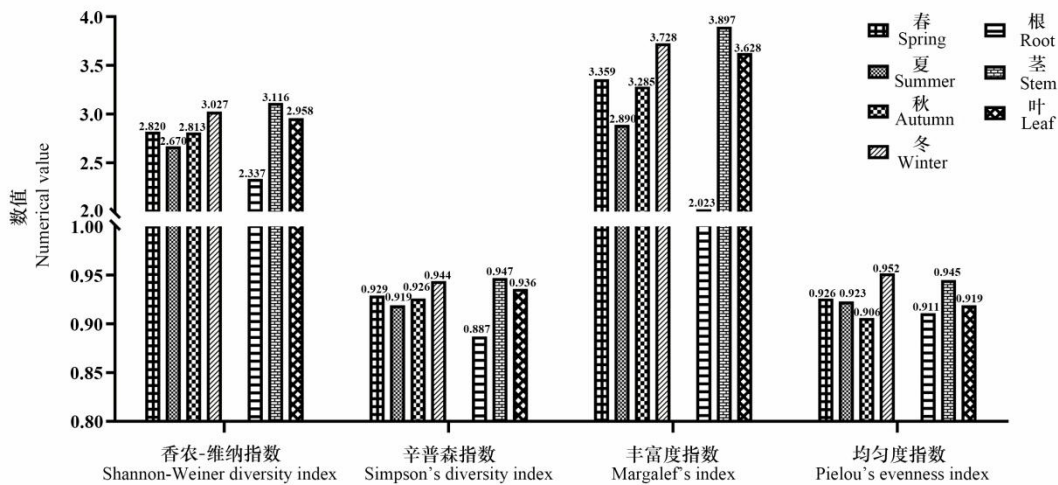


图 5 小黄花茶内生真菌多样性分析

Fig.5 Diversity analysis of endophytic fungi in *Camellia luteoflora*

2.3.4 小黄花茶内生真菌相似性分析结果

基于小黄花茶内生真菌种类组成，以欧式平方距离为标准，采用组间连接法进行聚类分析，衡量不同季节和部位间小黄花茶内生真菌组成的相似性。由图 6 可知，J、Y、G 分别代表茎、叶、根，C、D、X、Q 分别代表春、冬、夏、秋，其中 J、Y、G 集聚为一类，C、D、X、Q 集聚为一类，显示为部位和季节两大类别，这两大类别小黄花茶内生真菌组成差异明显；在部位类别中，茎部和叶部的内生真菌组成相似性最高，根部和这两个部位内生真菌组成差异明显；在季节类别中，春季和冬季内生真菌组成相似性较高，夏季和秋季内生真菌组成相似性较高，春、冬两季和夏、秋两季内生真菌组成差异明显。

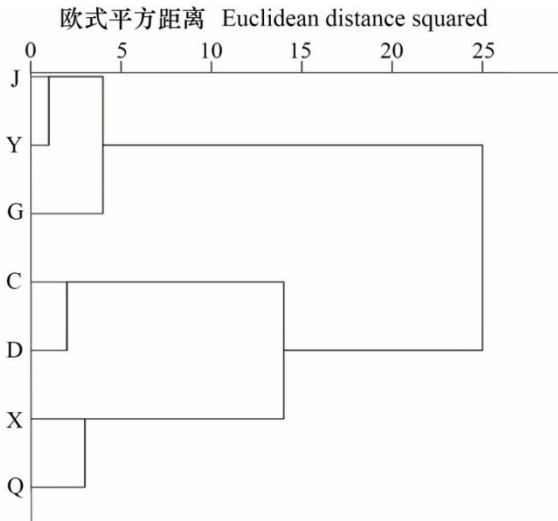


图 6 基于种类组成的小黄花茶内生真菌不同季节和部位的聚类图

Fig.6 Clustering diagram of endophytic fungi in different seasons and parts of *Camellia luteoflora* based on species composition

2.4 小黄花茶内生真菌抑菌作用结果

平板对峙结果表明（表 3），在 35 株供试内生真菌中，有 26 株内生真菌至少对 1 种病原真菌有抑制作用，占 74.29%。对茶叶轮斑菌、串珠镰刀菌、草莓炭疽菌、尖孢镰刀菌、西瓜枯萎菌、油菜菌核菌、*Colletotrichum cliviicola*、*Alternaria alternata* 具有抑菌活性的菌株分别占总数的 17.14%、25.71%、37.14%、25.71%、20.00%、34.29%、42.86%、25.71%。有 5 株内生菌抑菌性较强且具有广谱抑菌作用，分别为 CJ-II-2、XY-V-3、QY-II-4、QJ-III-2、DJ-I-2。其中 XY-V-3 对 8 种病原真菌的抑菌率均高于 50%，对草莓炭疽菌、西瓜枯萎菌、*Alternaria alternata* 的抑制作用最强，抑菌率分别为 76.31%、80.64%、77.49%；DJ-I-2 对油菜菌核菌和草莓炭疽菌的抑制作用最强，抑菌率分别为 82.16%、78.43%；QJ-III-2 对串珠镰刀菌的抑制作用最强，抑菌率高达 75.41%（图 7）。

表 3 小黄花茶内生真菌对 8 株病原真菌的抑制作用统计

Table 3 Statistics of the inhibitory effects of endophytic fungi on eight pathogenic fungi  
*Camellia luteoflora*

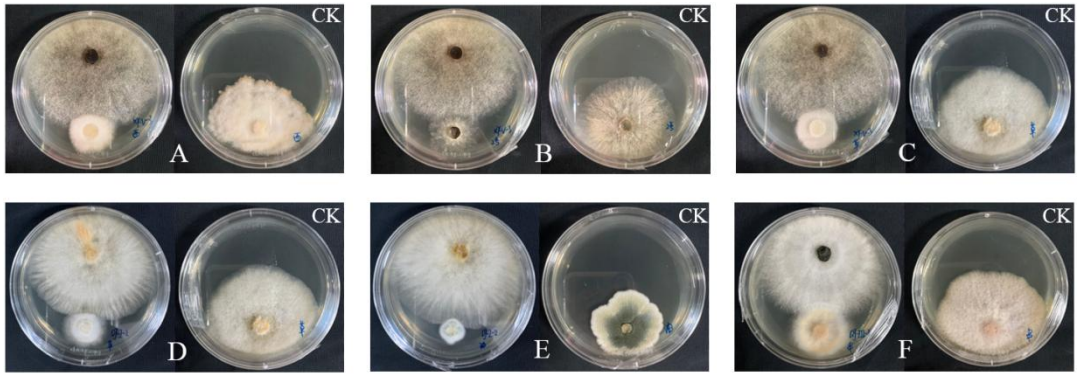
菌株编号	茶叶轮斑菌	串珠镰刀菌	草莓炭疽病菌	尖孢镰刀菌	西瓜枯萎菌	油菜菌核菌	<i>Colletotrichum cliviicola</i>	<i>Alternaria alternata</i>
Strain number	<i>Pestalotiopsis theae</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Colletotrichum fragariae</i>	菌 <i>Fusarium oxysporum f.sp. sclerotiorum</i> <i>Oxysporum niveum</i>	<i>Fusarium oxysporum f.sp. sclerotiorum</i>	<i>Sclerotium sclerotiorum</i>		
CG-II-1	—	—	—	—	—	—	—	—
CG-IV-11	—	—	—	—	—	—	—	—

chinaXiv:202307.00160v1

CY-III-3	-	-	+	-	-	-	-	-
CJ-IV-6	-	-	-	-	-	-	+	-
CJ-II-2	+	+	+	+	+	++	+	++
CJ-V-1	-	-	-	-	-	+	-	-
CJ-I-8	-	+	-	-	-	-	-	-
XG-III-4	-	-	+	-	-	-	-	+
XG-V-2	-	-	-	-	-	-	-	-
XY-III-5	-	-	-	-	-	-	-	-
XY-V-3	++	++	+++	++	+++	++	++	+++
XY-I-7	-	-	-	-	-	-	+	-
XY-II-2	-	-	-	-	-	-	-	+
XJ-II-1	-	-	-	-	-	-	-	-
QG-IV-3	-	-	-	+	-	-	-	-
QY-II-6	-	-	-	-	+	-	-	-
QY-II-4	+	+	++	+	+	++	+	++
QY-IV-3	-	-	+	-	-	++	-	-
QJ-I-8	-	+	-	-	-	-	+	-
QJ-III-2	+	+++	++	+	+	++	++	++
QJ-V-4	-	-	-	-	-	-	-	-
QJ-IV-7	-	-	+	-	-	-	+	-
DG-I-11	-	-	-	-	-	-	-	-
DY-IV-1	-	-	-	-	-	++	-	-
DY-IV-12	-	-	+	++	-	++	+	+
DY-V-3	+	+	++	+	-	+	-	++
DY-II-1	-	-	+	-	-	-	-	-
DY-III-5	-	-	-	-	-	-	+	-
DJ-III-9	-	-	+	-	-	+	-	-
DJ-I-2	++	++	+++	++	++	+++	+	++
DJ-I-4	-	+	-	-	-	-	-	-
DJ-II-1	-	-	-	-	+	-	-	-
DJ-V-5	-	-	-	-	-	-	-	-
DJ-IV-4	-	-	-	+	-	+	++	-
DJ-IV-10	-	+	-	-	-	+	-	-

注：+++表示抑制率≥75%；++表示 50%≤抑制率<75%；+表示 25%≤抑制率<50%；-表示无抑制作用。  
Note: +++ indicates inhibition rate ≥75%; ++ means 50%≤inhibition rate<75% ; + means 25%≤inhibition rate <50%; - Indicates no inhibition.





A. XY-V-3 对西瓜枯萎菌; B. XY-V-3 对 *Alternaria alternata*; C. XY-V-3 对草莓炭疽病菌; D. DJ-I-2 对草莓炭疽病菌; E. DJ-I-2 对油菜菌核菌; F. QJ-III-2 对串珠镰刀菌。

A. XY-V-3 confrontation *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*; B. XY-V-3 confrontation *Alternaria alternata*; C. XY-V-3 confrontation *Colletotrichum fragariae*; D. DJ-I-2 confrontation *C. fragariae*; E. DJ-I-2 confrontation *Sclerotium sclerotiorum*; F. QJ-III-2 confrontation *Fusarium oxysporum*.

图 7 部分菌株的平板对峙图  
Fig.7 Confrontation pictures of some strains

### 3 讨论与结论

本研究分四个季节从小黄花茶根、茎、叶三个部位分离得到内生真菌 261 株,通过形态学特征、显微观察以及 ITS 序列分析鉴定为 22 个属,其中优势属为炭疽菌属、间座壳属和拟盘多毛孢属,这一结果与山茶科山茶属植物油茶 (*Camellia oleifera*) 内生真菌的优势菌属相似 (张婷等, 2017)。小黄花茶内生真菌与同一纬度相邻地区的贵州赤水桫欏保护区桫欏 (*Alsophila spinulosa*) 内生真菌所共有的属包括色孢子节菱孢菌属、枝孢菌属、炭疽菌属、镰刀菌属、炭团菌属、拟盘多毛孢属、拟茎点霉属、炭角菌属共 8 个属 (刘永兰等, 2021),与采自自贡的茶树 (*Camellia sinensis*) 的内生真菌共有属只有毛壳菌属、炭疽菌属、镰刀菌属、青霉属 4 个属 (游见明, 2009),由于地理位置相距较远,小黄花茶的内生真菌和所处同一属植物茶树的内生真菌组成差异较大,而与生长环境相近的桫欏的内生真菌组成更相似,说明环境对于植物内生真菌的组成具有较大的影响。小黄花茶分离出的 35 个菌株中,除 *Aphanoascus verrucosus* (QY-II-6) 和 *Scytalidium auriculariicola* (XY-V-3) 外,有 33 株在其他植物内生真菌中有分布。

小黄花茶内生真菌总的定殖率和分离率为 71.30%和 80.55%,与同为南方地区的植物白花曼陀罗 (*Datura metel*) 和南方红豆杉 (*Taxus wallichiana* var. *mairei*) 的定殖率相近 (臧威等, 2014; 冯美茹, 2021),但略高于北方地区生长的植物,可能与南方热带和亚热带地区降水量大,空气湿度高,更适宜内生真菌在植物体内浸染定殖有关 (Porrás-Alfaro & Bayman, 2011)。小黄花茶叶部和茎部内生真菌定殖率和分离率相似,高于根部,多样性指数茎部>叶部>根部,说明小黄花茶内生真菌对小黄花茶组织部位具有一定的偏好性,可能是由于小黄花茶叶和茎的营养与空间更加充足,更适宜内生真菌浸染定殖。小黄花茶不同季节中,秋冬季的内在真菌定殖率和分离率大于春夏季,多样性指数也是秋冬季大于春夏季,与贵州马尾松 (*Pinus massoniana*) (罗鑫和于存, 2021) 和贵州艾纳香 (*Blumea balsamifera*) (唐青等, 2017) 内生真菌多样性研究结果相近,小黄花茶耐阴喜湿,分布于四川古蔺与贵州赤水接壤的地区,该地区秋季降雨量大,9~12 月平均气温 17℃ (翁玲等, 2010),同时秋冬季为小黄花茶的花果期 (郭能彬等, 2006),植物内部营养物质积累和激素水平变化较大 (孙红梅等, 2017),可能也是小黄花茶内生真菌在秋冬季生长更活跃的一个原因。小黄

花茶内生真菌聚类分析结果显示,春季和冬季内生真菌组成相似性较高,夏季和秋季内生真菌组成相似性较高,春、冬两季和夏、秋两季内生真菌组成差异明显,植物内部环境随季节的变化而变化,间接影响植物内生真菌的组成,这是植物内生真菌随季节环境不断变化而长期协调进化的结果(张林平等,2013);茎部和叶部的内生真菌组成最相似,与根部的组成差异较大,这是由于植物不同组织器官之间的微环境不同,包括化学成分、空间大小和通气状况等,直接影响了植物不同组织器官内生真菌的类群组成(Vesterlund et al., 2011)。

平板对峙结果表明,有26株内生真菌至少对1种植物病原真菌有抑制作用,有5株内生真菌对8种植物病原菌均有不同程度的抑制作用,分别为 *Diaporthe phaseolorum*(CJ-II-2)、*Scytalidium auriculariicola*(XY-V-3)、*Hypoxylon fragiforme*(QJ-III-2)、*Fusarium graminearum*(DJ-I-2)和 *Annulohypoxylon stygium*(QY-II-4)。*Scytalidium auriculariicola*对8株病原真菌均有较强的抑制作用,抑菌率均高于50%。Ahmad等(2020)发现柱霉属真菌 *S. parasiticum*能够产生具有抗真菌活性的生物碱、黄酮类、脂肪酸等次生代谢产物。由此可推断,柱霉属真菌的次生代谢产物丰富多样,在抑制其他真菌的生长方面具有较强的作用。本研究表明 *Fusarium graminearum*对油菜菌核菌和草莓炭疽菌的抑制作用较强,对油菜菌核菌的抑制率为82.16%。付洁等(2006)发现 *F. graminearum*的次生代谢产物对油菜菌核菌有较强的抑制作用,与本研究的结果相近。Jin等(2022)发现,与 *Hypoxylon fragiforme*同属的山核桃(*Carya cathayensis*)内生真菌 *Hypoxylon* spp.的次生代谢产物能抑制三株植物病原真菌的生长;Becker等(2020)发现,与 *Annulohypoxylon stygium*同属的真菌 *A. viridistratum*的次生代谢产物对白色念珠菌(*Candida albicans*)和冻土毛霉菌(*Mucor hiemalis*)等真菌有较强的抑制作用。同样可说明, *Annulohypoxylon*和炭团菌属真菌的次生代谢产物具备生物防治的潜力。因此,后续可对这5株内生真菌的抑菌机理进行进一步的研究,从而为其开发利用以及小黄花茶病害的防治提供理论支撑。本研究的8株植物病原真菌中, *Colletotrichum cliviicola*和 *Alternaria alternata*为小黄花茶的致病菌, *Colletotrichum cliviicola*能使小黄花茶叶片产生黄白色斑点, *Alternaria alternata*引起小黄花茶叶片发黑,出现黑色斑块(代玉煊, 2021)。*Scytalidium auriculariicola*和 *Hypoxylon fragiforme*对 *Colletotrichum cliviicola*和 *Alternaria alternata*的抑制率均高于50%,对小黄花茶自身病害的防治具有较好的作用,在小黄花茶生物防治的开发上值得更深入的研究。

#### 参考文献:

- AHMAD R, LIM CK, MARZUKI NF, et al., 2020. Metabolic profile of *Scytalidium parasiticum*-*Ganoderma boninense* co-cultures revealed the alkaloids, flavonoids and fatty acids that contribute to anti-ganoderma activity [J]. *Molecules*, 25(24): 5965.
- ALY AH, DEBBAB A, KJER J, et al., 2010. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products [J]. *Fungal Divers*, 41(1): 1-16.
- BARNETT HL, HUNTER BB, 1998. Illustrated genera of imperfect fungi: 4th edition[M]. PAUL, Minnesota: The American Phytopathological Society Press: 1-218.
- BECKER K, WESSEL AC, LUANGSA-ARD JJ, et al., 2020. Viridistratins A–C, antimicrobial and cytotoxic benzo fluoranthenes from stromata of *Annulohypoxylon viridistratum* (Hypoxylaceae, Ascomycota) [J]. *Biomolecules*, 10(5): 805.
- CHEN F, WANG X, 2016. A new record species of Theaceae in Sichuan Province——*Camellia luteoflora*[J]. *J Fujian For Sci Technol*, 43(4): 167-168. [陈锋, 王馨, 2016. 四川山茶科植物新记录种——小黄花茶[J]. 福建林业科技, 43(4): 167-168.]
- DAI YX, 2021. Study on habitat, disease pathogens and breeding techniques of *Camellia*

- luteoflora*[D].Chengdu: Sichuan University: 44-46. [代玉焯, 2021. 珍稀植物小黄花茶 (*Camellia luteoflora*)的生境、病害病原及繁育技术研究[D]. 成都: 四川大学: 44-46.]
- FENG MR, 2021. Diversity, antimicrobial activities and the growth promoting characteristics of endophytic fungi from *Datura metel* L.[D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University: 28-29. [冯美茹, 2021. 白花曼陀罗内生真菌多样性及抗菌与促生特性研究[D]. 广州: 广东药科大学: 28-29.]
- FU J, HOU J, HAO SH, 2006. Determination of bacteriostatic and herbicidal activity of *Fusarium graminearum* toxin[J]. Shaanxi J Agr Sci, 52(1): 3-4. [付洁, 侯军, 郝双红, 2006. 禾谷镰刀菌毒素的抑菌除草活性测定[J]. 陕西农业科学, 52(1): 3-4.]
- GUO NB, DENG YF, LIU QB, 2006. Observation and preliminary study on biological characteristics of *Camellia luteoflora*[J]. Environ Prot Technol, 12(1): 18-20. [郭能彬, 邓佑华, 刘清炳, 2006. 小黄花茶生物学特性观察及初步研究[J]. 贵州环保科技, 12(1): 18-20.]
- JIN QY, PENG HZ, ZHU TJ, et al., 2022. Isolation and functional characteristics of the fungus *Hypoxyton* spp. Sjl8 with biocontrol potential[J]. Fungal Biol, 126(2): 174-184.
- KUMAR S, STECHER G, TAMURA K, 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Mol Biol Evol, 33(7): 67-89.
- LI MG, HUI JC, LIU ZX, et al., 2018. Diversity of endophytic fungi from *Juglans regia* L. in Yijun, Shaanxi[J]. J Yunnan Agric Univ, 33(5): 818-825. [李梦歌, 惠建超, 刘泽星, 等, 2018. 陕西宜君核桃内生真菌多样性研究[J]. 云南农业大学学报, 33(5): 818-825.]
- LIU QB, LIU BY, LIANG S, 2005. Discussion on the causes and countermeasures of the endangerment of *Camellia luteoflora*[J]. Environ Prot Technol, 11(3): 18-20. [刘清炳, 刘邦友, 梁盛, 2005. 小黄花茶濒危原因及对策探讨[J]. 贵州环保科技, 11(3): 18-20.]
- LIU YL, ZHANG LN, LIANG L, et al., 2021. Study on endophytic fungal diversity of *Alsophila Podophylla* in Chishui Nature Reserve, Guizhou Province[J]. Mycosystema, 40(10): 2673-2684. [刘永兰, 张丽娜, 梁路, 等, 2021. 贵州赤水桫欏自然保护区桫欏内生真菌多样性研究[J]. 菌物学报, 40(10): 2673-2684.]
- LUO X, YU C, 2021. Diversity of endophytic fungi from *Pinus massoniana* in Guizhou Province, southwestern China[J]. Mycosystema, 40(3): 531-546. [罗鑫, 于存, 2021. 贵州马尾松内生真菌多样性[J]. 菌物学报, 40(3): 531-546.]
- MARTINA O, SABINE G, ADRIAN L, 2014. Effects of natural hybrid and non-hybrid *Epichloë* endophytes on the response of *Hordeum europaeus* to drought stress[J]. New Phytol, 201(1): 242-253.
- PORRAS-ALFARO A, BAYMAN P, 2011. Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes [J]. Ann Rev Phytopathol, 49 (1): 291-315.
- SONG JQ, TIAN CX, 2020. Biocontrol of plant endophytes in plant diseases[J]. Hubei Agric Mechanization, 42(4): 69-70. [宋金秋, 田璨熙, 2020. 植物内生菌在植物病害中的生物防治[J]. 湖北农机化, 42(4): 69-70.]
- SUN HM, LIAO HB, LIU PP, et al., 2017. Dynamic changes of endogenous hormones in fruit branch leaves of *Camellia nitidissima* with different[J]. Guihaia, 37(12): 1537-1544. [孙红梅, 廖浩斌, 刘盼盼, 等, 2017. 不同成花量金花茶花果期果枝叶内源激素的变化[J]. 广西植物, 37(12): 1537-1544.]
- TANG Q, ZHOU SX, LEI BX, et al., 2017. Diversity of endophytic fungi from *Blumea balsamifera* in southwest Guizhou[J]. Mycosystema, 36(11): 1498-1503. [唐青, 周思旋, 雷

- 帮星, 等, 2017. 贵州西南部艾纳香内生真菌多样性研究[J]. 菌物学报, 36(11): 1498-1503.]
- VESTERLUND S, HELANDER M, FAETH S H., et al, 2011. Environmental conditions and host plant origin override endophyte effects on invertebrate communities[J]. Fungal Divers, 47(1): 109-118.
- WANG J, JI LEG, LIU JJ, 2017. Endophytic fungi diversity of *Platycladus orientalis* in different age[J]. J SW For Univ, 37(3): 113-117. [王京, 吉力尔鬼, 刘建军, 2017. 不同年龄侧柏内生真菌多样性研究[J]. 西南林业大学学报, 37(3): 113-117.]
- WEI JC, 1979. Identificacion manual of fungi[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers: 179. [魏景超, 1979. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社: 179.]
- WENG L, YAN ZL, CHEN Y, 2010. Study on tourism climate comfort in Chishui City[J]. J Anhui Agric Sci, 38(26): 14651-14654. [翁玲, 姚正兰, 陈宇, 2010. 赤水市旅游气候舒适度研究[J]. 安徽农业科学, 38(26): 14651-14654.]
- YANG X, 2014. Yibin Changning found “*Camellia queen*” *Camellia luteoflora*[N]. West China City Daily, 2014-5-3(a10). [杨雪, 2014. 宜宾长宁发现“茶花皇后”小黄花茶[N]. 华西都市报, 2014-5-3(a10).]
- YOU JM, 2009. Isolation of endophytic fungi from *Camellia sinensis*[J]. Hubei Agric Sci, 48(05): 1168-1170. [游见明, 2009. 茶树内生真菌的分离[J]. 湖北农业科学, 48(05): 1168-1170.]
- ZANG W, SUN X, SUN JQ, et al., 2014. Diversity and community structure of endophytic fungi from *Taxus chinensis* var. *mairei*[J]. Chin J Appl Ecol, 25(7): 2071-2078. [臧威, 孙翔, 孙剑秋, 等, 2014. 南方红豆杉内生真菌的多样性与群落结构[J]. 应用生态学报, 25(7): 2071-2078.]
- ZHANG LP, ZHANG Y, WANG S, 2013. The composition and diversity of endophytic fungi in different parts of *Camellia oleifera* Abel[J]. J For Eng, 27(6): 101-105. [张林平, 张扬, 王舒, 2013. 油茶不同部位的内生真菌组成及多样性分析[J]. 林业科技开发, 27(6): 101-105.]
- ZHANG T, ZUO XZ, XU Y, 2017. Diversity and bacteriostasis of endophytic fungi in *Camellia oleifera*[J]. J Henan Agric Sci, 46(4): 68-74. [张婷, 左雪枝, 徐艳, 2017. 油茶内生真菌多样性与抑菌性研究[J]. 河南农业科学, 46(4): 68-74.]
- ZHANG YJ, SUN BD, ZHANG S, et al., 2010. Mycobiotal investigation of natural *Ophiocordyceps sinensis* based on culture-dependent investigation[J]. Mycosystema, 29(4): 518-528. [张永杰, 孙炳达, 张姝, 等, 2010. 分离自冬虫夏草可培养真菌的多样性研究[J]. 菌物学报, 29(4): 518-528.]
- ZHAO JL, SHAN T, MOU Y, et al., 2011. Plant-derived bioactive compounds produced by endophytic fungi[J]. Mini-Rev in Med Chem, 11(2): 159-168.
- ZHOU E, LI B, MA Y, 2023. Community composition and diversity characteristics of endophytic fungi isolated from wild *Sinopodophyllum hexandrum* in Taibai Mountain[J]. Biotechnol, 33(1): 14-18. [周炯, 李勃, 马瑜, 2023. 太白山野生桃儿七内生真菌群落组成及多样性[J]. 生物技术, 33(1): 14-18.]
- ZHOU TC, 2000. Study on utilization of germplasm resources of *Camellia luteoflora* and *Camellia longistyla*[J]. Guizhou Sci, 18(3): 209-215. [邹天才, 2000. 小黄花茶和长柱红山茶种质资源利用的研究[J]. 贵州科学, 18(3): 209-215.]